DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com

Modificaciones: §
Supresiones: §

LIAISON® Insulin (REF 310360)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON® Insulin emplea la tecnología de la quimioluminiscencia (CLIA) en un ensayo inmunológico para la determinación cuantitativa *in vitro* de la insulina en muestras de suero o de plasma humano obtenido con EDTA.
El ensayo debe realizarse en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer.

2. SUMARIO Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La insulina es una hormona polipeptídica con un peso molecular de 6 kDa, compuesta por dos cadenas de péptidos, A (de 21 aminoácidos) y B (de 30 aminoácidos), unidas por dos enlaces disulfuros cruzados y sintetizada por las células beta de los islotes de Langherans pancreáticos. La insulina es hidrolizada a partir de una cadena precursora simple, la proinsulina (con un peso molecular de 9 kDa), donde las cadenas A y B están unidas por el péptido de conexión (péptido C). La proinsulina se hidroliza por acción de proteasas específicas para producir insulina y péptido C que se almacenan en los gránulos de las células de los islotes de Langherans pancreáticos y liberados en la sangre circulante. La insulina es secretada principalmente como respuesta directa al estímulo de la glucosa exógena.

La insulina influye en la mayor parte de las funciones metabólicas del organismo. Su acción más conocida es la de reducir la concentración de glucosa en la sangre aumentando el ritmo al que la glucosa se convierte en glucógeno en el hígado y en los músculos y en grasa en el tejido adiposo, estimulando el ritmo de metabolización de la glucosa y reduciendo la gluconeogénesis. La insulina estimula la síntesis de proteínas, ADN y ARN generalmente en las células, y se encarga de la absorción de aminoácidos y de su incorporación en las proteínas de los músculos. Aumenta la absorción de glucosa en el tejido adiposo y su conversión en grasas, inhibiendo la lipólisis. La acción principal de la insulina se lleva a cabo en la membrana celular, donde probablemente facilita el transporte de la glucosa y los aminoácidos dentro de las células. Al mismo tiempo, puede activar enzimas intracelulares, como la glucógeno sintetasa, implicadas en la síntesis del glucógeno.

El ensayo inmunológico de la insulina es útil para diagnosticar la diabetes mellitus u otros trastornos del metabolismo glucídico y lipídico. Un aumento de los niveles de insulina se observa en los sujetos obesos, en las mujeres tratadas con anticonceptivos orales y en los pacientes con síndrome de Cushing, acromegalia e hipertiroidismo. Una disminución de los niveles de insulina se observa sobre todo en pacientes con diabetes mellitus. Generalmente las concentraciones circulantes de insulina se estudian con el test de tolerancia a la glucosa y la glicemia en ayunas. Sin embargo, una sola determinación puede no bastar para proporcionar las informaciones suficientes debido a las amplias fluctuaciones en la respuesta temporal de los niveles de insulina y de glicemia en individuos y condiciones clínicas diferentes.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El método para la determinación cuantitativa de la insulina es un ensayo inmunológico de tipo *sandwich* basado en el principio de la quimioluminiscencia.
Un anticuerpo monoclonal de ratón específico dirigido contra la insulina recubre las partículas magnéticas (fase sólida) y otro anticuerpo monoclonal (específico para un epítopo diferente de la insulina) está enlazado a un derivado del isoluminol (conjugado anticuerpo-isoluminol).
Durante la incubación, la insulina presente en los calibradores, en las muestras o en los controles enlaza el anticuerpo monoclonal en fase sólida, el anticuerpo conjugado reacciona en seguida con la insulina, ya enlazada en la fase sólida. Se forma un *sandwich* sólo en presencia de las moléculas de insulina que crean un puente entre los dos anticuerpos. Después de la incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado.
A continuación, se añaden los reactivos starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU, relative light units) y es directamente proporcional a la concentración de insulina presente en los calibradores, en las muestras o en los controles.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

Integral de reactivos para 100 determinaciones	
2,3 mL	Suspensión de partículas magnéticas recubiertas de anticuerpo anti-insulina (monoclonal de ratón), albúmina sérica bovina, tampón PBS, < 0,1% azida sódica.
28 mL	Solución de conjugado: anticuerpo anti-insulina (monoclonal de ratón) conjugado con un derivado del isoluminol, IgG de ratón no específica, albúmina sérica bovina, tampón PBS, detergentes, 0,2% ProClin® 300, conservantes.

En el kit se incluyen:

1,5 mL	Calibrador A (liofilizado): insulina humana semisintética (obtenida por modificación enzimática de la insulina porcina), suero humano sin insulina, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
1,5 mL	Calibrador B (liofilizado): insulina humana semisintética (obtenida por modificación enzimática de la insulina porcina), suero humano sin insulina, un colorante azul inactivo, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
2	Etiquetas con códigos de barras para el calibrador A y para el calibrador B.

El conjugado y las partículas magnéticas se suministran listos para su uso. Los calibradores se suministran liofilizados.

Materiales requeridos, pero no suministrados (relacionados con el sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016). LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015). LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). – LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025). –	LIAISON® Module (REF 319130). – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) o LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). LIAISON® Light Check (REF 319101). LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® Waste Bags (REF 450003). LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990).

Otros materiales requeridos

Controles LIAISON® Insulin, niveles 1 y 2 (REF 310361).
LIAISON® Endocrinology Diluent (REF 319133).

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

Todos los materiales utilizados para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivos para la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y anti-HIV-2. Sin embargo, visto que ningún método de análisis puede asegurar que los agentes patógenos estén ausentes, todo el material de origen humano se deberá considerar potencialmente infeccioso y manipularlo como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

Para manipular los reactivos es preciso adoptar una serie de precauciones importantes:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Siga los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:
Antes de quitar el precinto, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Si es necesario, repita el procedimiento hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas. Si es necesario, seque con mucho cuidado la superficie de cada pared cuando quite el precinto para eliminar el líquido residual.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Respete las recomendaciones siguientes:
Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma tras la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso una vez que se ha disuelto la espuma, que ha permanecido en el instrumento y que se ha agitado.

Instalación del integral en el área de reactivos

LIAISON® Analyzer

– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta de código de barras orientada a la izquierda y espere 30 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
– Consulte el Manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

– El instrumento LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de reactivos del analizador. Consulte los detalles en el Manual del usuario del analizador.
  a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
  b. Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético durante al menos 30 segundos (varios minutos como máximo). Si es necesario, repita la operación.
– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta orientada a la izquierda y espere 15 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
– Consulte el Manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

CALIBRADORES

Los calibradores del kit LIAISON® Insulin se suministran liofilizados.

– Reconstituya el contenido de los frascos con 1,5 mL de agua desionizada o destilada.
– Espere durante 10-15 minutos a 18-25°C la disolución completa.
– Agite delicadamente los frascos por inversión. Evite la formación de espuma.
– La solución reconstituida de cada calibrador debe transferirse en un tubo de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm. Coloque en el tubo de ensayo del calibrador la etiqueta correspondiente con el código de barras e introduzca en el instrumento. Con una solución de calibrador se pueden realizar al menos siete calibraciones.

Consulte el apartado 8 para conservar los calibradores después de la reconstitución.
Para obtener información detallada sobre el uso de los calibradores en el instrumento, consulte el correspondiente Manual del usuario del analizador.

CONTROLES

Hágase referencia a las instrucciones del juego de controles LIAISON® Insulin para preparar y manipular los controles.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

– **Sellado**: Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
– **Abierto en el instrumento o a 2-8°C**: Estabilidad mínima cuatro semanas.
  Después de este intervalo de tiempo, se puede seguir usando el integral de reactivos, siempre que los controles permanezcan dentro de los límites esperados.
– Use siempre el mismo analizador con el integral de reactivos abierto.
– Use las gradillas suministradas con el analizador para mantener el integral en posición vertical.
– No congele.
– Mantenga el integral de reactivos en posición vertical durante la conservación para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas.
– Mantenga protegido de la luz directa.

CALIBRADORES

– **Liofilizados**: Estables a 2-8°C hasta la fecha de caducidad. A su llegada, los calibradores deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que el liófilo se adhiera a la tapa del frasco.
– **Reconstituidos**: Estables durante tres días si se conservan a 2-8°C en los frascos originales bien cerrados o en los tubos de ensayo tapados, o bien durante períodos más largos conservados a –20°C o a temperaturas inferiores. Después de la reconstitución, los calibradores deben conservarse en posición vertical para evitar que la solución se adhiera a la tapa del frasco o del tubo de ensayo. Los calibradores descongelados deben mezclarse con cuidado antes de realizar el ensayo. Calibradores sometidos hasta tres ciclos de congelación y descongelación no han mostrado diferencias significativas.

No exponga los calibradores reconstituidos a temperatura ambiente durante más tiempo del necesario para procesarlos en el analizador.
Durante la manipulación de los calibradores, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El ensayo se puede efectuar en muestras de suero o plasma humano obtenido con EDTA. El uso de plasma obtenido con otros anticoagulantes no ha sido evaluado y por lo tanto está desaconsejado.
Recoja la sangre extraída por punción en vena en tubos de ensayo sin aditivos y déjela coagular según los procedimientos establecidos por el laboratorio, asegurándose de que la muestra se mantenga íntegra. Separe el suero del coágulo lo antes posible. La presencia de hemólisis puede indicar una manipulación incorrecta de las muestras durante la recogida o la preparación de las mismas. Si el ensayo se lleva a cabo en las 48 horas siguientes a la recogida, las muestras se pueden conservar a 2-8°C. En caso contrario, se deben subdividir en alícuotas congeladas a –20°C o a temperaturas inferiores. Diez muestras se han sometido a cuatro ciclos de congelación y descongelación. Los resultados no han presentado diferencias significativas.

Antes de realizar el ensayo descongele con precaución, agite las muestras descongeladas y elimine las burbujas de aire que pudiera haber.
No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que presenten material suspendido o evidente contaminación microbiana.
No use muestras coaguladas.
Se recomienda analizar las muestras inmediatamente después de haberlas colocado en el instrumento.
El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es 210 µL (60 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

La prueba de los calibradores específicos del ensayo permite utilizar los valores RLU (unidades relativas de luz) detectados para ajustar la curva maestra asignada. Con cada solución de calibración se pueden realizar siete calibraciones.

Los calibradores deben utilizarse solamente con el lote de integral de reactivos con el cual están asociados. No use calibradores asociados a un lote de integral de reactivos diferente en el mismo ensayo. Para favorecer la asociación correcta del integral de reactivos a los calibradores, el número de lote de los calibradores también se encuentra impreso en la etiqueta del integral de reactivos.

La calibración debe realizarse por triplicado cada vez que se verifique al menos una de las siguientes condiciones:

– Se usa un nuevo lote de reactivos starter.
– La calibración anterior fue realizada más de cuatro semanas antes.
– Se usa un nuevo lote de integral de reactivos.
– El instrumento ha sufrido una intervención de asistencia técnica.
– Los valores de los controles están fuera de los rangos esperados.

LIAISON® Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en los códigos de barras del integral de reactivos.

LIAISON® XL Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos.

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

LIAISON® Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante el código de barras incluido en la etiqueta del integral de reactivos. Si el código de barras no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el Manual del usuario del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante la información codificada en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos. Si la etiqueta no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el Manual del usuario del analizador.

En caso de que los códigos de barras de los calibradores externos no se lean correctamente, los datos indicados en las etiquetas de los mismos (debajo del código de barras) pueden introducirse manualmente en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer. Para obtener información detallada, consulte el correspondiente Manual del usuario del analizador.

Las operaciones del analizador son las siguientes:

1. Dispensa los calibradores, los controles o las muestras en el módulo de reacción.
2. Dispensa las partículas magnéticas recubiertas.
3. Dispensa el conjugado en el módulo de reacción.
4. Incuba.
5. Lava con el líquido de lavado/líquido del sistema.
6. Añade los reactivos starter y mide la luz emitida.

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® se deben analizar individualmente para evaluar las prestaciones del test. El control de calidad se debe realizar analizando los controles LIAISON® Insulin
(a) por lo menos una vez por cada día de trabajo,
(b) cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
(c) cuando se calibra el kit,
(d) cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,
(e) cuando se determina la adecuación de las prestaciones del integral de reactivos abierto con más de cuatro semanas de anterioridad, o según las disposiciones legislativas y las reglamentaciones vigentes en cada país.

Los valores de control deben permanecer dentro de los rangos previstos. Cada vez que el valor de uno o ambos controles no coincida con el rango esperado, habrá que repetir la calibración y evaluar de nuevo los controles. Si los valores siguen fuera de rango tras una calibración satisfactoria, será preciso repetir la prueba usando un frasco de control reconstituido sin abrir. Los resultados no deben notificarse si los valores de control están fuera del rango previsto.

Las prestaciones de otros controles se deben evaluar para asegurar su compatibilidad con este test antes del uso. Por lo tanto es indispensable establecer los intervalos de los valores de los materiales usados para el control de calidad.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El analizador calcula automáticamente las concentraciones de insulina de las muestras desconocidas. Para obtener información detallada, consulte el correspondiente Manual del usuario del analizador.
Aunque los calibradores y los controles pueden generar resultados de RLU o dosis distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, los resultados de los pacientes son equivalentes.

Intervalo de ensayo: El instrumento calcula automáticamente las concentraciones de insulina hasta 500 µUI/mL.

Estándar de referencia: El ensayo está calibrado según la Primera Preparación Internacional de Referencia de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization First International Reference Preparation) NIBSC código 66/304.

Valores esperados: Cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia para la población tomada en consideración.

Datos clínicos: En un centro clínico en Alemania se realizó un estudio en muestras de 101 sujetos que proporcionaron los resultados siguientes.
Las muestras de suero se recogieron en sujetos adultos seleccionados y mantenidos en ayunas. Estos individuos fueron subdivididos en subgrupos en función de los resultados de un test estandarizado de tolerancia a la glucosa (oGTT), realizado según los criterios para diagnosticar la diabetes mellitus establecidos por la Asociación Americana para la Diabetes (American Diabetes Association, ADA).
El grupo formado por 68 sujetos aparentemente sanos con test normal de tolerancia a la glucosa mostró niveles basales medianos de insulina de 7,69 µUI/mL (5°-95° percentil: 3,21-16,32 µUI/mL).
Estos resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de indicaciones garantizadas, sino de datos indicativos.

Clasificación de los sujetos	Número de sujetos (M / H)	Edad (años)	Valor mediano de insulina (µUI/mL)		
			Suministración de glucosa	30 min después de la suministración	120 min después de la suministración
Sujetos aparentemente sanos con test normal de tolerancia a la glucosa	68 (36/32)	18,0-79,2	7,69	50,69	25,49
Sujetos con test anormal de tolerancia a la glucosa	18 (10/8)	40,0-82,0	13,56	77,61	83,95
Sujetos con diabetes mellitus	15 (11/4)	46,6-81,0	10,57	41,32	60,33

14. LIMITACIONES DEL ENSAYO

- Los reactivos del kit deben usarse sólo en el sistema LIAISON®.
- Los calibradores son específicos para cada lote y no deben utilizarse con un integral de reactivos perteneciente a otro lote.
- Los componentes individuales del integral de reactivos no deben ser separados del integral.
- El kit no debe usarse después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta externa.
- Para obtener resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a las instrucciones de uso y poseer una adecuada técnica manual.
- La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación mediante calentamiento pueden modificar los resultados del análisis.
- Los resultados del test se muestran de manera cuantitativa. Sin embargo, el diagnóstico de una patología se debe formular en base al cuadro clínico del paciente, con otras pruebas clínicas y con la opinión del médico. Cada decisión terapéutica debe ser tomada caso por caso.
- El kit LIAISON® Insulin se ha puesto a punto para la determinación del analito de forma intacta e inalterada. La degradación de la molécula puede influir en los resultados finales.
- Aunque estén presentes agentes capaces de neutralizar los anticuerpos anti-ratón (HAMA, human anti-mouse antibodies), concentraciones de HAMA extremadamente elevadas algunas veces pueden influir en los resultados del ensayo.
- La presencia de autoanticuerpos circulantes anti-insulina puede interferir en el ensayo.
- No se han estudiado las interferencias debidas a la administración de fármacos.
- Las muestras que contienen niveles de insulina por encima del intervalo de ensayo pueden prediluirse con LIAISON® Endocrinology Diluent (REF 319133).
- Se han realizado dos estudios comparativos en 40 muestras apareadas de suero y de plasma obtenido con EDTA utilizando dos lotes de kit. Se han observado las correlaciones siguientes, obtenidas con el análisis de la regresión lineal.
  Resultado con plasma-EDTA = 1,116 x resultado con suero –1,522. Coeficiente de correlación r = 0,995.
  Resultado con plasma-EDTA = 1,241 x resultado con suero –3,987. Coeficiente de correlación r = 0,991.
- Los integrales no deben utilizarse con los dos tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Una vez que se ha usado un integral con un tipo de analizador concreto, debe seguir usándose en ese analizador hasta que se termine. Por motivos de trazabilidad relacionados con lo antes expuesto, es necesario terminar el seguimiento de los pacientes con el mismo tipo de analizador. Los seguimientos deben realizarse en un único tipo de analizador (LIAISON® o LIAISON® XL).

15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad que tiene el test para detectar exactamente el analito ante la presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, hemólisis, lipemia, bilirrubinemia).

Interferencias. Estudios controlados sobre los factores potencialmente interferentes han demostrado que las prestaciones del test no están influenciadas por las concentraciones de bilirrubina hasta 20 mg/dL, de hemoglobina hasta 1000 mg/dL o de triglicéridos hasta 3000 mg/dL.

Reacciones cruzadas. La presencia de las siguientes moléculas que pueden ocasionar, potencialmente, reacciones cruzadas muestra interferencias en el ensayo como se ilustra en la tabla que sigue. Estas interferencias, sin embargo, tienen una importancia clínica limitada. El test se ha realizado según las líneas guía del Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, USA), Documento N. EP07-A2.

Molécula	Cantidad añadida a la muestra	% Reactividad cruzada
Péptido C humano	200 ng/mL	–1,4
Proinsulina humana	200 ng/mL	–0,9
Glucagón humano	200 ng/mL	–0,8
Factor de crecimiento símil-insulínico del primer tipo (insulin-like growth factor I, IGF-I)	200 ng/mL	2,9
Insulina bovina	0,5 ng/mL	74,7
Insulina porcina	0,5 ng/mL	191,3

15.2. Precisión con LIAISON® Analyzer

La repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) han sido determinadas utilizando muestras en diferentes concentraciones de analito. Los resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de prestaciones garantizadas porque pueden existir diferencias entre los diferentes laboratorios.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte replicados en la misma sesión analítica en el laboratorio donde se desarrolló el kit.

Repetibilidad	A	B	C	D	E	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	4,7	8,7	22,7	45,3	120,0	11,6	108,3
Desviación estándar (µUI/mL)	0,2	0,3	0,6	0,8	4,7	0,4	2,2
Coeficiente de variación (%)	4,3	3,3	2,6	1,8	3,9	3,0	2,0
Valor mínimo (µUI/mL)	4,4	8,2	21,8	43,6	114,2	10,8	102,8
Valor máximo (µUI/mL)	5,1	9,3	24,2	46,7	133,3	12,1	112,3

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte replicados en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día) utilizando tres lotes diferentes de integral. Los ensayos se realizaron en dos sitios, en el laboratorio donde se desarrolló el kit (sitio 1) y en un laboratorio independiente (sitio 2) utilizando los mismos instrumentos.

Reproducibilidad - Sitio 1	F	G	H	I	J	Control 1	Control 2
LOTE Nr. 01							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	8,2	20,0	42,4	88,7	139,4	10,7	107,3
Desviación estándar (µUI/mL)	0,5	0,9	1,9	4,4	4,7	0,9	5,4
Coeficiente de variación (%)	5,5	4,4	4,5	5,0	3,3	8,1	5,0
Valor mínimo (µUI/mL)	7,3	18,6	39,8	83,1	134,4	9,5	97,7
Valor máximo (µUI/mL)	9,1	21,6	47,1	101,1	148,1	12,5	116,7
LOTE Nr. 02							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	8,5	20,7	43,4	88,5	137,6	11,0	107,5
Desviación estándar (µUI/mL)	0,6	1,3	3,3	4,6	6,5	0,7	5,1
Coeficiente de variación (%)	6,9	6,0	7,7	5,2	4,7	6,6	4,7
Valor mínimo (µUI/mL)	7,3	18,1	36,8	78,0	127,3	9,6	97,7
Valor máximo (µUI/mL)	9,7	22,6	47,8	94,2	146,5	12,2	116,5
LOTE Nr. 03							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	7,9	19,3	40,9	86,1	137,5	10,1	105,6
Desviación estándar (µUI/mL)	0,4	1,1	3,3	5,3	7,4	0,6	7,2
Coeficiente de variación (%)	5,4	5,7	8,2	6,2	5,4	5,7	6,9
Valor mínimo (µUI/mL)	7,2	17,0	34,9	76,1	120,9	9,1	94,3
Valor máximo (µUI/mL)	8,5	20,9	44,7	92,5	149,0	11,0	117,4
Coeficiente de variación inter-lotes (%)	3,7	3,5	3,0	1,6	0,8	4,3	1,0

Reproducibilidad - Sitio 2	K	L	M	N	O	Control 1	Control 2
LOTE Nr. 01							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	4,5	9,1	33,1	98,8	153,4	8,9	115,9
Desviación estándar (µUI/mL)	0,3	0,9	2,1	7,5	6,6	0,3	3,3
Coeficiente de variación (%)	5,5	9,9	6,2	7,5	4,3	3,9	2,8
Valor mínimo (µUI/mL)	3,9	5,9	30,0	84,1	143,6	8,1	109,9
Valor máximo (µUI/mL)	5,0	10,1	37,9	112,5	171,0	9,4	120,9
LOTE Nr. 02							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	3,7	7,4	29,2	93,8	142,4	8,3	103,9
Desviación estándar (µUI/mL)	0,3	0,5	1,6	8,6	9,3	0,4	6,1
Coeficiente de variación (%)	8,1	6,7	5,4	9,2	6,5	4,9	5,9
Valor mínimo (µUI/mL)	3,0	6,3	25,4	68,0	111,3	7,4	90,8
Valor máximo (µUI/mL)	4,2	8,0	31,6	104,0	153,5	9,2	117,0
LOTE Nr. 03							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	3,8	8,2	30,8	95,7	147,9	7,8	105,1
Desviación estándar (µUI/mL)	0,2	0,3	1,9	8,2	6,3	0,3	3,6
Coeficiente de variación (%)	4,7	3,7	6,1	8,5	4,3	4,4	3,5
Valor mínimo (µUI/mL)	3,5	7,7	25,4	74,3	128,9	7,1	98,6
Valor máximo (µUI/mL)	4,1	8,8	33,4	109,9	155,0	8,4	110,3
Coeficiente de variación inter-lotes (%)	11,6	10,4	6,3	2,6	3,7	6,8	6,1

15.3. Precisión con LIAISON® XL Analyzer

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir, las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de analito específico. La variabilidad mostrada en las tablas no ha dado lugar a una clasificación errónea de las muestras.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte réplicas en la misma sesión analítica.

Repetibilidad	1	2	3	4	5	6	7	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	5,763	7,730	12,03	27,51	69,23	88,03	131,1	10,70	113,2
Desviación estándar (µUI/mL)	0,29	0,24	0,32	0,77	1,50	2,57	2,45	0,39	6,89
Coeficiente de variación (%)	4,95	3,09	2,64	2,79	2,16	2,92	1,87	3,62	6,09
Valor mínimo (µUI/mL)	5,470	7,328	11,34	25,74	65,07	82,82	124,9	9,826	98,33
Valor máximo (µUI/mL)	6,384	8,058	12,57	28,64	71,28	92,09	135,0	11,13	120,8

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte réplicas en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día).

Reproducibilidad	1	2	3	4	5	6	7	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	3,914	7,765	11,81	27,08	69,93	88,87	131,8	10,49	112,4
Desviación estándar (µUI/mL)	0,19	0,40	0,51	1,03	2,11	3,60	3,95	0,61	5,24
Coeficiente de variación (%)	4,73	5,17	4,35	3,81	3,02	4,05	3,00	5,84	4,66
Valor mínimo (µUI/mL)	3,333	7,048	10,76	24,44	66,37	80,64	126,1	9,342	99,72
Valor máximo (µUI/mL)	4,298	8,402	12,97	28,89	73,18	93,62	141,0	11,43	120,6

15.4. Linealidad con el test de dilución

Se han analizado diluciones en serie de dos muestras de suero de concentración elevada de insulina tanto no diluidas, como después de dilución con suero sin insulina. Las concentraciones medidas de insulina obtenidas en función de las concentraciones esperadas han sido analizadas con la regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) eran 0,999.

Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
no diluido	–	153,9	–	no diluido	–	101,9	–
1:2	77,0	73,8	96,0	1:2	50,9	47,9	94,1
1:4	38,5	39,6	102,9	1:4	25,5	25,7	100,9
1:8	19,2	21,4	111,4	1:8	12,7	13,1	102,7
1:16	9,6	11,8	122,5	1:16	6,4	6,9	107,6
1:32	4,8	5,5	115,0	1:32	3,2	3,2	100,2

Se han analizado dos muestras adicionales de suero con niveles de insulina por encima del intervalo de ensayo sin diluir y diluidas en serie con el diluyente para endocrinología LIAISON® Endocrinology Diluent. Los niveles medidos de insulina obtenidos en función de los niveles esperados han sido analizados con la regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) eran 1,000.

Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
no diluido	–	> 500,0	–	no diluido	–	> 500,0	–
1:2	–	346,6	–	1:2	–	> 500,0	–
1:4	173,3	170,7	98,5	1:4	–	344,6	–
1:8	86,7	88,1	101,7	1:8	172,3	179,7	104,3
1:16	43,3	45,8	105,7	1:16	86,2	95,3	110,6
1:32	21,7	23,0	106,2	1:32	43,1	49,0	113,8

15.5. Veracidad con el test de recuperación

Se han analizado dos grupos de muestras, cada uno de ellos formado por una muestra con concentración de insulina elevada y por una muestra con concentración de insulina baja o normal mezcladas en proporción 1:5, 1:2, 1:1, 2:1 y 5:1 (grupo 1: muestras X y Y - grupo 2: muestras W y Z). Los porcentajes de recuperación han sido determinados por los resultados de las muestras no diluidas. Las concentraciones medidas de insulina obtenidas en función de las concentraciones esperadas han sido analizadas con la regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) estaban comprendidos entre 0,993 y 0,999.

Grupo 1	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Grupo 2	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
X no diluido	–	4,1	–	W no diluido	–	20,3	–
5:1	26,6	25,1	94,2	5:1	30,1	29,8	98,8
2:1	49,2	46,2	94,0	2:1	39,9	37,9	94,8
1:1	71,7	72,8	101,4	1:1	49,8	49,0	98,4
1:2	94,3	94,8	100,5	1:2	59,6	62,8	105,4
1:5	116,8	121,5	103,9	1:5	69,4	68,5	98,7
Y no diluido	–	139,4	–	Z no diluido	–	79,3	–

15.6. Efecto gancho

El efecto gancho de dosis elevadas (HDH, high-dose hook effect) ha sido determinado añadiendo insulina recombinante a un suero sin insulina hasta una concentración máxima de 200.000 µUI/mL.
Cuando se ensayen muestras que contengan unas concentraciones de analito sumamente elevadas, se pueden obtener unos niveles aparentes inferiores al nivel real por el efecto gancho. La presencia de un efecto gancho ha sido evaluada analizando un suero sin insulina al que se ha añadido altas concentraciones de insulina. Todas las muestras presentaron valores de concentración por encima del intervalo de ensayo, lo que indica que la clasificación de las muestras es correcta.

15.7. Sensibilidad analítica y funcional

La sensibilidad analítica (límite de detección) se define como la mínima dosis de analito que el test puede detectar, que puede ser distinta del punto cero.

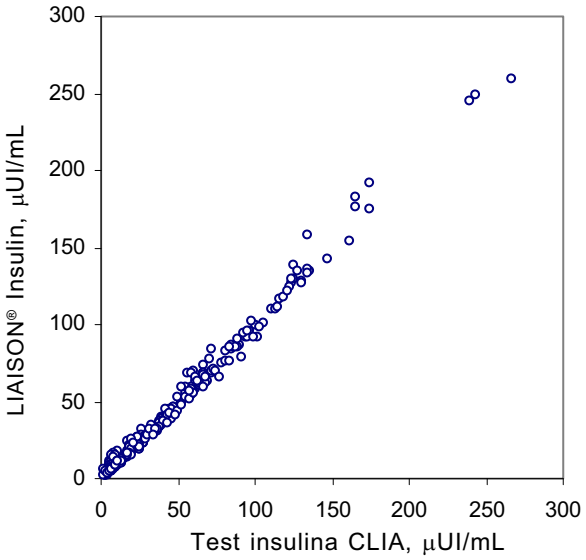
La sensibilidad analítica, calculada según las líneas guía del Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, USA), Documento N. EP17-A, oscila entre 0,23 µUI/mL y 0,61 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instrumentos).

La sensibilidad analítica, definida como la mínima dosis de analito que el test puede detectar, que puede ser distinta del punto cero, es decir dos desviaciones estándar por encima de cero, oscila entre 0,17 µUI/mL y 0,50 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instrumentos).

La sensibilidad funcional, definida como la concentración de analito a la que el coeficiente de variación inter-ensayo es superior al 20%, oscila entre 0,51 µUI/mL y 0,87 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instrumentos).

15.8. Comparación con otros métodos

Se han comparado los resultados del test LIAISON® Insulin con los de un método CLIA de referencia en muestras de suero. Se ha obtenido la siguiente correlación:
LIAISON® Insulin = 1,012 x test de referencia CLIA –0,46. Coeficiente de correlación r = 0,996 (n = 331).



1. FINALIDAD DEL ENSAYO

Los controles LIAISON® Insulin (niveles 1 y 2) deben ser usados en los ensayos de quimioluminiscencia (CLIA) LIAISON® para verificar la fiabilidad de los ensayos. Las prestaciones metodológicas de los controles LIAISON® Insulin no son definidas con otros ensayos o instrumentos automáticos.

LIAISON® Analyzer. El Certificado de Análisis (Certificate of Analysis) contiene información específica sobre el lote de controles, que debe introducirse manualmente en el software del analizador antes de colocar los frascos de los controles en el instrumento. Para obtener información detallada, consulte el Manual del usuario del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Los códigos de barras del certificado de análisis contienen información específica sobre el lote de los controles. Esta información debe leerse con el lector manual de código de barras del LIAISON® XL Analyzer antes de introducir los frascos de los controles. Para obtener información detallada, consulte el Manual del usuario del analizador.

2. MATERIALES SUMINISTRADOS

2 x 2 frascos

2 frascos (2 x 1,0 mL) de LIAISON® Control Insulin (nivel 1): insulina humana semisintética (obtenida por modificación enzimática de la insulina porcina), suero humano sin insulina, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
2 frascos (2 x 1,0 mL) de LIAISON® Control Insulin (nivel 2): insulina humana semisintética (obtenida por modificación enzimática de la insulina porcina), suero humano sin insulina, un colorante azul inactivo, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
2 etiquetas con códigos de barras para el control insulina (nivel 1) y 2 etiquetas con códigos de barras para el control insulina (nivel 2).
Los controles se suministran liofilizados.

El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables. Cada laboratorio es responsable de adoptar límites diferentes para cumplir exigencias específicas.

3. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los controles no son específicos para lote de kit. Se pueden intercambiar entre sí aunque pertenezcan a lotes diferentes.
- Todos los materiales utilizados para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivos para la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y anti-HIV-2. Sin embargo, visto que ningún método de análisis puede asegurar que los agentes patógenos estén ausentes, todo el material de origen humano se deberá considerar potencialmente infeccioso y manipularlo como tal.
- Observe las precauciones necesarias para la manipulación de los reactivos de laboratorio.
- Los residuos deben eliminarse de acuerdo con la reglamentación local.

4. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

No exponga los controles reconstituidos a temperatura ambiente durante más tiempo del necesario para procesarlos en el analizador.

- **Liofilizados**: Estables a 2-8°C hasta la fecha de caducidad. A su llegada, los controles deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que el liófilo se adhiera a la tapa del frasco.
- **Reconstituidos**: Estables durante cuatro semanas si se conservan a 2-8°C en los frascos originales bien cerrados o en los tubos de ensayo tapados. Después de la reconstitución, los controles deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que la solución se adhiera a la tapa del frasco o del tubo de ensayo. No congele. Las prestaciones después la conservación a –20°C o a temperaturas inferiores no se han definido.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Reconstituya el contenido de los frascos con 1,0 mL de agua desionizada o destilada.
- Espere durante 10-15 minutos a 18-25°C la disolución completa.
- Agite delicadamente los frascos por inversión. Evite la formación de espuma.
- La solución reconstituida de cada control debe transferirse en un tubo de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm. Coloque en el tubo de ensayo del control la etiqueta correspondiente con el código de barras y ubique en el área de las muestras del instrumento. Con una solución de control es posible realizar por lo menos 14 test.
- El volumen mínimo de control necesario es 210 µL (60 µL de control + 150 µL de volumen muerto).
- Mantenga los controles en el instrumento sólo el tiempo necesario para realizar el test de control de calidad.
- Después del uso, tape los tubos de ensayo lo antes posible y manténgalos a 2-8°C en posición vertical.
- Durante la manipulación de los controles, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

7. MANIPULACIÓN

– Coloque tubos de transferencia con código de barras en una de las gradillas con muestras del paciente del analizador.
– Asegúrese de no colocar controles idénticos directamente uno tras otro.
– Consulte las instrucciones de manipulación en el correspondiente Manual del usuario del analizador.

8. VALORES ESPERADOS

En el certificado de análisis se indican los intervalos y valores esperados de concentración de insulina en los controles. Estos se han establecido considerando la variabilidad de las sesiones analíticas respecto a la curva predefinida memorizada por el fabricante, a fines de garantizar la precisión de los resultados analíticos y obtener indicaciones sobre la estabilidad y el deterioro de los reactivos. Si los valores experimentales de los controles están repetidamente fuera de los intervalos predefinidos, con mucha probabilidad, el ensayo se ha llevado a cabo de forma incorrecta.